Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.2, Summer 2020, P. 349-360
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۳۶۰-۳۴۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله علمی-پژوهشی

تأثیر غلظت‌های مختلف آهن و رژیم پلکانی آهن بر برخی صفات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و خصوصیات گلدهی گیاه همیشه بهار

زینب ایزدی[۱]- عبدالحسین رضایی نژاد[۲]*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۰۳

چکیده

به منظور بررسی اثرات افزایش تدریجی غلظت آهن در طی رشد گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*)، آزمایشی با سه تیمار آهن و ۴ تکرار در پاییز سال ۱۳۹۶ در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان انجام گرفت. تیمارها شامل غلظت ثابت ۴ و ۳۵ میکرومولار آهن (کلات آهن (III) – N, N – اتیلن دی آمین دی هیدروکسی فنیل استیک اسید (Fe(III)-EDDHA)) و تیمار سوم رژیم پلکانی بود که گیاهان در ابتدای کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت و هر هفته دو میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه می‌شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۲۶ میکرومولار رسید. نتایج حاکی از آن بود که از نظر صفات حجم ریشه و فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن برتری نشان دادند. اما بالاترین بیوماس مربوط به تیمار ۳۵ میکرومولار آهن و رژیم پلکانی بود. در حالی که بیشترین شاخص کلروفیل a و b، کلروفیل a+b و کاروتنوئید، وزن خشک ریشه و گل، عمر گل، تعداد گل و وزن تر گل اول در گیاهان تحت رژیم پلکانی آهن ملاحظه شد. به علاوه بالاترین و پایین‌ترین میزان فتوسنتز "در مرحله دوم اندازه‌گیری" (به‌ترتیب، ۱۲/۲ و ۴/۵ میکرومول بر متر مربع برثانیه) و تعرق (به‌ترتیب، ۱/۹ و ۰/۸ میلی‌مول بر متر مربع بر ثانیه) مربوط به گیاهان تحت رژیم پلکانی آهن بود. لذا رژیم پلکانی بعنوان روش مناسب جهت تغذیه آهن در گیاه همیشه بهار در کشت بدون خاک قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: پارامترهای فتوسنتزی، رنگدانه‌های فتوسنتزی، گیاهان زینتی

مقدمه

کمبود ریز مغذی‌ها یکی از شایع‌ترین معضلات کشاورزی در میلیون‌ها هکتار از زمین‌های قابل کشت مناطق خشک و نیمه خشک می باشد. یکی از مهمترین نقایص خاک‌های ایران بویژه در مناطق جنوب ایران، قلیایی بودن آن است. وجود مقادیر زیاد یون کلسیم در خاک های قلیایی سبب ایجاد اختلال در جذب عناصر کم مصرف توسط گیاه می گردد (۱۸). علی‌رغم اینکه آهن چهارمین عنصر فراوان در پوسته‌ی زمین است، تنها میزان کمی از آهن در خاک‌هایی که از تهویه مناسبی برخوردارند برای گیاهان قابل استفاده است. بنابراین کمبود آهن یکی از مهمترین فاکتورهای محدود کننده رشد و نمو گیاهان در خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه خشک سراسر دنیا محسوب می‌شود (۲۰). به دلیل وجود بی‌کربنات در خاک‌های آهکی میزان آهن قابل استفاده برای گیاه در این خاک‌ها بسیار کم می‌باشد. کمبود آهن به عنوان یک اختلال تغذیه‌ای، کیفیت دامنه وسیعی از محصولات کشاورزی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۷). آهن به عنوان یک ریزمغذی ضروری در گیاهان عالی شناخته شده است که در چندین پروسه متابولیک از جمله مسیر بیوسنتز کلروفیل نقش حیاتی بازی می‌کند و به عنوان اجزا تشکیل دهنده تعداد زیادی از پروتئین‌ها و آنزیم‌های مورد نیاز در طی فتوسنتز، تنفس و تثبیت ازت، مانند پروتئین‌های آهن- سولفور و پروتئین‌های آهن بدون هم[۳] می‌باشد (۷ و ۲۰). منابع ذخیره آهن در سلول کلروپلاست، میتوکندری و واکوئل هستند (۲). حدود ۸۰ درصد آهن برگ در کلروپلاست ذخیره شده است (۷). از آنجایی‌که وضعیت اکسیداسیون و احیا آهن به راحتی قابل تغییر است آهن نقش کلیدی در واکنش‌های بیوشیمیایی مانند

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان
(*- نویسنده مسئول: Email: rezaeinejad.h@lu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhorts4.v34i2.82363

3- Non-heme iron protein

انتقال الکترون و تغییرات پتانسیل احیا بازی می‌کند. ۶۰ درصد آهن ذخیره شده در کلروپلاست در زنجیره انتقال الکترون دخالت دارد (۲ و ۷). به همین جهت سطوح فلورسانس کلروفیلی و فعالیت فتوسنتزی گیاهان بطور قابل ملاحظه‌ای تحت شرایط کمبود آهن کاهش می‌یابد. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مثل سوپراکسیداز دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز نیز در شرایط کمبود آهن تغییر می‌کند. سوپراکسیداز دیسموتاز مهمترین جاروبگر[1] سوپراکسید (O_2^-) در سیستم گیاهی است. در نتیجه فعالیت این آنزیم رادیکال سوپر اکسید به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تبدیل می شود. در ادامه این پروسه پراکسیداز وارد عمل می گردد و پراکسید هیدروژن را تجزیه می‌کند. از اینرو تحت شرایط کمبود آهن پروسه‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در سیستم گیاه بطور جدی مختل می‌گردد (۷). تحقیقات مختلف نشان می‌دهد هموستازی آهن، نمو گل و باروری گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بررسی عناصر موجود در درختان زیتون[2] نشان داد که بالاترین غلظت آهن در دوره تمایز گل در این گیاه وجود دارد (۲۸). بررسی اثر کمبود آهن بر روی درختان گلابی[3] و هلو[4] نشان داد کمبود آهن و کلروز پایدار منجر به تخلیه کربوهیدرات‌ها در گیاه می‌شود و در نتیجه این امر توسعه جوانه گل و گلدهی در این گیاهان کاهش یافت (۴). اثر مثبت کوددهی آهن بر روی تولید گل در گونه‌های مختلف گیاهان زینتی مانند گیاه همیشه بهار (۵) به اثبات رسیده است، همچنین قطر گل (۳)، کمیت و کیفیت گل در بوته رز در نتیجه استفاده از کود آهن افزایش نشان داد (۱۷). بهبود ویژگی‌ها گل (تعداد ساقه گلدهنده در هر گیاه، طول ساقه گلدهنده و تعداد گلچه) در گلایول نیز در نتیجه استفاده از کود آهن گزارش شده است (۳۰).

جلوگیری یا اصلاح کلروز ناشی از کمبود آهن معمولا بوسیله به‌کار بردن کودهای گران قیمت مثل کلات‌های سنتتیک آهن (III) صورت می‌گیرد (۸). توسعه مراحل رشد برای یک گیاه با تغییر در ساختار سلول، محتویات آب، بیوماس و وظایف سلول همراه است که در طی نمو گیاه جذب عناصر را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۲). ایزدی و همکاران (۹) به منظور بررسی اثر تقسیط آهن روی خصوصیات گلدهی همیشه بهار[5] در کشت بدون خاک، مراحل رشد گیاه را به سه مرحله تقسیم کردند (مرحله اول: جوانه‌زنی بذر تا مرحله ۴-۶ برگی، مرحله دوم: مرحله ۶-۴ برگی تا ابتدای گلدهی و مرحله سوم: شروع گلدهی تا زمان پژمرده شدن گل) و رژیم‌های مختلف آهن با غلظت ۴ و ۳۵ میکرومولار آهن را برای هر یک از مراحل رشد در نظر گرفتند. نتایج نشان داد استفاده از آهن با غلظت ۴ میکرومولار در مرحله اول یا سوم رشد سبب کاهش معنی‌دار وزن و تعداد گل‌ها نشد. بطور برعکس استفاده از غلظت ۴ میکرومولار آهن در مرحله دوم رشد سبب کاهش وزن و تعداد گل‌ها شد که نشان می دهد، استفاده از غلظت ۴ میکرومولار آهن تنها در مرحله اول و سوم رشد گیاه قابل قبول است. استفاده از آهن با غلظت ۴ میکرومولار تنها در یکی از مراحل مرحله اول و سوم یا هر دو مرحله به ترتیب سبب کاهش ۲۹-۲۰ درصدی و ۴۸ درصدی مصرف آهن می گردد.

مطالعات زیادی در مورد تقسیط سایر مواد غذایی از جمله نیتروژن (۲۷) و پتاسیم (۱۵) وجود دارد ولی تحقیقات زیادی در مورد تقسیط آهن در مراحل مختلف رشد بویژه در گیاهان زینتی وجود ندارد. تحقیق حاضر به منظور درک اهمیت افزایش تدریجی غلظت آهن همگام با توسعه مراحل نمو در گیاه زینتی و دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis*) صورت گرفت. از اهداف دیگر این تحقیق کاهش هزینه‌های تولید و کاهش میزان آلودگی‌های محیط زیست از طریق کاهش مصرف آهن در مراحل اولیه نمو گیاه همیشه بهار است. در نهایت نتایج این تحقیق می‌تواند محققان تغذیه گیاهی را تشویق نماید تا نحوه و میزان مصرف آهن را در سایر گیاهان زینتی مورد بررسی قرار دهند.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و چهار تکرار، در پاییز سال ۱۳۹۶ در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان با میانگین دمای روزانه و شبانه حدود ۲۸-۲۲ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۱۰۰ ± ۵۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه انجام شد. در طی انجام این آزمایش بذور نسل F1 همیشه بهار (*Calendula officinalis* L., cv. 'Yellow Gitana') از شرکت هم زادن بی وی[6] هلند تهیه شدند و در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۸ سانتی‌متر به روش کشت بدون خاک (بستر متخلخل[7]) کشت شدند. بستر کشت مورد استفاده از مخلوط ماسه اسید شور شده و پرلایت (۱:۱) بود. لازم به ذکر است در هر گلدان سه بذر کشت شد و در مرحله دو برگ حقیقی، قوی‌ترین گیاه نگهداری شد و بقیه گیاهان حذف شدند. بلافاصله بعد از کشت بذور هر گلدان بطور روزانه ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول غذایی نیم هوگلند دریافت کرد. نوع کلات آهن مورد استفاده در این محلول غذایی Fe(III)-EDDHA بود. از نظر غلظت آهن دریافتی گیاهان به سه دسته تقسیم شدند، به ترتیب دسته اول و

1- Scavenger
2- *Olea europaea*
3- *Pyrus communis*
4- *Prunus persica*
5- *Calendula officinalis* L., cv. 'Yellow Gitana'

6-.HEM ZADEN BV, Netherlands
7- Soilless culture

دوم از ابتدا تا انتهای آزمایش غلظت ۴ و ۳۵ میکرومولار آهن را دریافت کردند. دسته سوم شامل گیاهانی بود که بلافاصله بعد از کاشت بذر به مدت یک هفته غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و از آن به بعد ۲ میکرومولار به غلظت آهن دریافتی به طور هفتگی اضافه می‌شد تا زمانی که در انتهای آزمایش غلظت آهن دریافتی در این گیاهان به ۲۶ میکرومولار رسید. لازم به ذکر است در ادامه از این تیمار با نام رژیم پلکانی نامبرده می‌شود. بعد از آماده‌سازی محلول غذایی، ۵ میلی‌مولار کربنات کلسیم و بیست میلی‌مولار بی‌کربنات سدیم جهت شبیه سازی pH محیط کشت به شرایط موجود در خاک‌های قلیایی موجود در سطح زمین که منجر به کاهش جذب آهن از خاک می‌گردد، به محلول غذایی اضافه شد تا pH محلول غذایی به ۷/۷±۰/۱ برسد. بعد از گذشت ۱۲ هفته، در مرحله گلدهی گیاهان شاخص‌های زیر مورد بررسی قرار گرفت. این ویژگی‌ها شامل بیوماس کل، حجم ریشه، وزن خشک ریشه، تعداد گل، قطر گل (اندازه‌گیری توسط کولیس دیجیتال)، تعداد ردیف گلبرگ و عمر گل بود. به منظور اندازه‌گیری حجم ریشه، ریشه مربوط به هر گیاه جدا و به دقت مورد شستشو قرار گرفت. از اختلاف حجم آب در قبل و بعد از اضافه کردن ریشه بعنوان حجم ریشه گزارش گردید (۱۸). برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیختن هالر (۱۴) استفاده شد و در نهایت میزان جذب نور نمونه‌ها با سه طول موج ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Mapada UV-1800, Shanghai, P.R. China) ثبت شد. برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش مک‌آدام و همکاران (۱۶)، استفاده شد. بعد از تهیه عصاره به روش مذکور، برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز تغییرات جذب نور با فواصل ۱۰ ثانیه، به مدت دو دقیقه، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طول موج ۴۷۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. با استفاده از روش بوج و آست (۶) پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء بر اساس غلظت مالون دی آلدهید تولید شده در اثر آسیب به غشا و واکنش با تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد. بعد از تهیه عصاره، قرائت نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ و ۵۳۲ نانومتر صورت گرفت. میزان فتوسنتز، تعرق، میزان دی اکسید کربن اتاقک زیر روزنه و مقاومت روزنه‌ای در دو مرحله از مراحل رشد گیاه (مرحله اول: گیاهان تحت رژیم پلکانی، در حال دریافت غلظت ۱۶ میکرومولار آهن بودند و مرحله دوم: گیاهان تحت رژیم پلکانی، در حال دریافت غلظت ۲۶ میکرومولار آهن بودند) روی برگ‌های جوان که به‌طور کامل توسعه پیدا کرده بودند، توسط دستگاه اندازه‌گیری فتوسنتز (ساخت کشور انگلستان مدل LCA4, ADC Bioscientific, Ltd Hoddesdon) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. بدین منظور هر برگ به مدت ۶۰ ثانیه درون اتاقک اندازه‌گیری تبادلات گازی برگ قرار گرفت. اندازه‌گیری در روز صاف و آفتابی بین ساعت ۱۱-۹ صورت گرفت که شدت نور در این زمان تقریبا ۹۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه تابش فعال فتوسنتزی و میزان دی اکسید کربن حدود ۳۶۰ میکرولیتر در لیتر بود. در طول اندازه‌گیری دمای محیط گلخانه ۲۴ درجه سانتی‌گراد و دمای اتاقک حدود ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (9.1.3) انجام شد. میانگین داده‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

بررسی جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین رژیم‌های مختلف آهن از نظر حجم ریشه و وزن خشک ریشه در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). بالاترین حجم ریشه (۲۵/۸ میلی‌لیتر در گیاه) مربوط به گیاهانی بود که در تمام دوره آزمایش غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و کمترین حجم ریشه (۱۴/۵ میلی‌لیتر در گیاه) در گیاهانی که تحت تیمار ۳۵ میکرومولار آهن بودند، مشاهده گردید. در بین تیمارهای ذکر شده بالاترین و پایین ترین وزن خشک ریشه (۳/۵ و ۱/۸ گرم) به‌ترتیب در گیاهانی که تحت رژیم پلکانی آهن و ۳۵ میکرومولار آهن بودند ثبت گردید (جدول ۲). توسعه تارهای کشنده ریشه تحت تاثیر عوامل محیطی و ژنتیکی قرار دارد. تحت شرایط کمبود آهن گیاهان "استراتژی I" که شامل گیاهان دولپه و گیاهان تک لپه غیر گرامینه هستند، تغییرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در ریشه‌هایشان ایجاد می‌گردد که از مکانیسم‌های مورفولوژیکی ایجاد شده در این گیاهان برای افزایش جذب آهن می‌توان به افزایش تشکیل تارهای کشنده و سلول‌های معبر[1] اشاره کرد. هورمون‌های گیاهی بویژه اتیلن و اکسین در شرایط کمبود آهن افزایش پیدا می‌کنند، نقش مهمی را در تعیین سرنوشت سلول‌های اپیدرم ریشه ایفا می‌کنند. برای مثال، تیمار گیاهانی که تحت شرایط کمبود آهن قرار داشتند با اکسین منجر به توسعه تارهای کشنده گردید، به طوری‌که اکسین از طریق تحریک سنتز اتیلن این فرایند را کنترل می‌کند. در حالی‌که اکسین در موتانت‌های غیر حساس به اتیلن تولید تارهای کشنده ریشه را تحت تاثیر قرار نداد (۲۲).

ایزدی و همکاران (۹) اثر رژیم‌های مختلف آهن را در مراحل مختلف رشد (مرحله اول: جوانه‌زنی بذر تا مرحله ۴-۶ برگی، مرحله دوم: مرحله ۶-۴ برگی تا ابتدای گلدهی و مرحله سوم: شروع گلدهی تا زمان پژمرده شدن گل) گیاه همیشه بهار مورد بررسی قرار دادند و دریافتند گیاهانی که در دو مرحله یا کلیه مراحل رشد آهن با غلظت ۴ میکرومولار دریافت کردند بالاترین حجم ریشه را تولید کردند. در

1- Transfer cells

حالی که گیاهانی که در دو مرحله یا کلیه مراحل رشد خود آهن با غلظت ۳۵ میکرومولار دریافت کردند پایین‌ترین میزان حجم ریشه را تولید کردند. در تحقیق حاضر نیز استفاده از غلظت پایین آهن (۴ میکرومولار) سبب افزایش حجم ریشه گردید. نکته قابل توجه در این بین، حجم ریشه در گیاهان تحت رژیم پلکانی می‌باشد که افزایش تدریجی آهن در طی دوره رشد منجر به ایجاد حجم ریشه متوسط در مقایسه با تیمار غلظت پایین و بالای آهن گردید (جدول ۲)، که می‌تواند سطح جذب آب و مواد غذایی را برای گیاهان تحت این تیمار افزایش دهد.

در تحقیق حاضر بیوماس کل نیز تحت تاثیر رژیم‌های مختلف آهن قرار گرفت. به طوری که بالاترین بیوماس کل با میانگین ۱۹۱/۳ و ۱۸۶/۶ گرم به ترتیب مربوط به دو تیمار رژیم پلکانی و ۳۵ میکرومولار آهن بود (جدول ۲). از آنجایی که آهن به عنوان یک ریز مغذی ضروری نقش مهمی در فتوسنتز در گیاهان عالی بازی می‌کند، هموستازی آهن به عنوان فاکتور کلیدی می‌تواند زیست‌توده و کیفیت محصول را در گیاه تحت تاثیر قرار دهد. کمبود آهن می تواند سبب زرد شدن برگ‌های جوان و کاهش رشد گیاه گردد (۲۴).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی، گلدهی و بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار تحت تاثیر رژیم‌های مختلف آهن

Table 1- ANOVA for morphological, flowering and biochemical characteristics of *Calendula officinalis* under different Iron (Fe) regimes

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	حجم ریشه Root volume	وزن خشک ریشه Root dry weight	بیوماس کل Total biomass	تعداد گل Number of flowers	عمر گل Flower longevity	وزن تر گل اول First flower fresh weight	قطر گل Flower diameter	کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	کلروفیل a+b Chll a+b	کاروتنوئید Carotenoid	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase activity	مالون دی آلدهید Malondialdehyde
غلظت آهن Fe concentration	2	127.1*	*3.2	*1632.2	*57.8	*39.6	*10.5	*1076	*4.9	*0.725	*9	*0.776	*0.058	*0.811
خطا Error	9	76.1	0.186	319.4	2.4	1.8	0.46	11.1	0.321	0.164	0.574	0.016	0.001	0.159
ضریب تغییرات C.V (%)		13.6	16.6	10.1	7	13.3	10	4.5	9.1	21.2	9.3	8.8	10.9	16.9

*، ns: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار.

*, ns: significant at 5 % of probability level, and non–significant, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی و گلدهی در گیاه همیشه بهار تحت تاثیر رژیم های مختلف آهن

Table 2- Morphological and flowering characteristics of *Calendula officinalis* under different Iron regimes

رژیم‌های مختلف آهن (میکرومولار) Different iron regimes (μM)	حجم ریشه Root volume (ml/Plant)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	بیوماس کل Total biomass (g)	تعداد گل Number of flowers	عمر گل Flower longevity (day)	وزن تر گل اول First flower fresh weight (g)	تعداد ردیف گلبرگ Petal row number	قطر گل Flower diameter (mm)
4	25.8 a	2.5b	154.2b	18c	7.3c	5.3c	10b	55.7c
رژیم پلکانی* Staircase regime	20.8b	3.5a	191.3a	25.5a	13.5a	8.5a	13.5a	86.7a
35	14.5c	1.8c	186.6a	22.75b	9.8b	6.6b	13a	80.5b

میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ردیف در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار با استفاده ازآزمون LSD دارند.

In each column, means follow by the different letter are significantly different based on LSD test.

*رژیم پلکانی: گیاهان تحت این رژیم در هفته اول کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و هر هفته ۲ میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه می‌شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۳۰ میکرومولار رسید.

Staircase regime: plants under this regime, at first week, received 4 μM Fe then 2 μM was added to Fe concentration weekly, to reach 30 μM.

بررسی اثر تقسیط آهن روی خصوصیات فیزیو-مورفولوژیکی و بیوشیمیایی همیشه بهار در مراحل مختلف رشد نشان داد، استفاده از آهن با غلظت ۳۵ میکرومولار در کلیه مراحل رشد (۳۵-۳۵-۳۵) گیاه همیشه بهار سبب ایجاد بالاترین میزان وزن خشک گیاه شد و گیاهانی که تنها در یک مرحله رشد آهن با غلظت ۴ میکرومولار دریافت کردند (۳۵-۳۵-۴، ۳۵-۴-۳۵، ۴-۳۵-۳۵) از نظر وزن خشک با گیاهانی که در کلیه مراحل رشد خود آهن با غلظت ۳۵ میکرومولار دریافت کردند تفاوتی نداشتند (۹). آبادیا و همکاران (۱) گزارش کردند استفاده از کودهای آهن به صورت کاربرد خاکی و آب آبیاری موجب افزایش آهن قابل جذب و انتقال آن به اندم‌های هوایی گیاه می‌گردد که این امر در نهایت منجر به افزایش تولید شاخه، برگ، و همچنین دانه در گیاه می‌شود. روستا و همکاران (۲۳) نیز اثر سوء کمبود آهن را بر خصوصیات رشدی گیاهان از جمله تعداد برگ و ماده خشک گزارش کردند که مطابق با نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌باشد.

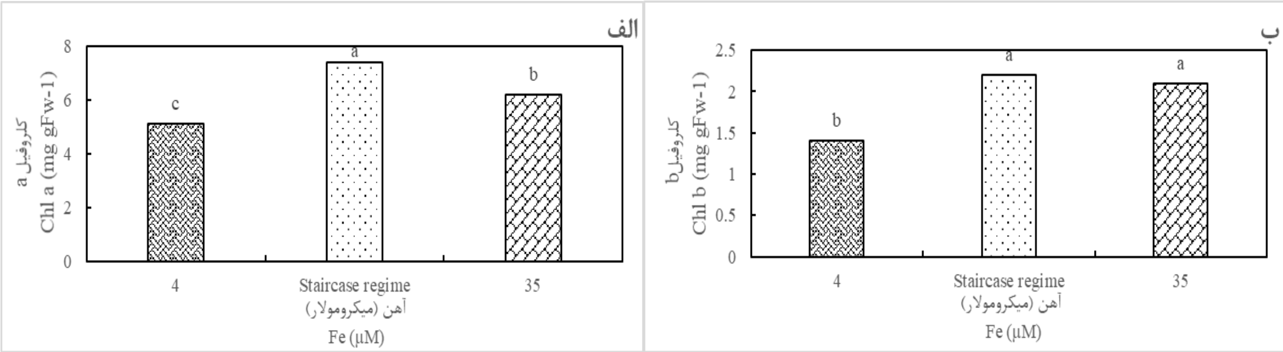
بررسی جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد بین تیمارهای مورد بررسی از نظر خصوصیات گل شامل وزن‌تر گل اول، تعداد گل، قطر گل، تعداد ردیف گلبرگ و عمر گل تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). بیشترین و کمترین میزان وزن تر گل اول، تعداد گل، قطر گل و عمر گل در گیاهان تحت رژیم پلکانی (به ترتیب، ۸/۵ گرم،۲۵/۵، ۸۶/۷ میلی‌متر، ۱۳/۵ روز) و ۴ میکرومولار آهن (۵/۳ گرم، ۱۸، ۵۵/۷ میلی‌متر و ۷/۳ روز) دیده شد. گیاهان تحت تیمار ۳۵ میکرومولار از نظر این ویژگی‌ها حد واسط دو تیمار دیگر بودند. قابل ذکر است بالاترین تعداد ردیف گلبرگ در گیاهان تحت تیمار ۳۵ میکرومولار آهن و رژیم پلکانی مشاهده گردید و پایین‌ترین تعداد ردیف گلبرگ در گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن دیده شد (جدول ۲). هموستازی آهن نقش مهمی را در کنترل رشد و نمو گل در گیاه دارد. بررسی اثر کاربرد آهن روی خصوصیات مورفولوژیکی و عملکرد گل در گیاه همیشه بهار نشان داد، وجود آهن کافی منجر به بهبود خصوصیات مورفولوژیکی و افزایش میزان عملکرد گل گردید (۲۱). هورمون‌هایی مانند اتیلن و آبسیزیک اسید در شرایط کمبود آهن در سیگنال‌دهی نقش ایفا می‌کنند (۳۱). همچنین این هورمون‌ها در بیان ژن‌های دخیل در پروسه پیری در گیاه نقش دارند. بررسی نقش اتیلن در کنترل پروسه پیری در گیاه میخک نشان می‌دهد که تولید اتیلن و پژمردگی گل بطور همزمان رخ می‌دهند، بدین ترتیب اتیلن نقش مهمی در پیر شدن گل ایفا می‌کند (۲۵). در تحقیق حاضر نیز در گیاهان تحت کمبود آهن (۴ میکرومولار) پایین‌ترین میزان تعداد گل، کیفیت گل و عمر گل مشاهده شد که با نتایج ایزدی و همکاران مطابقت داشت (۹). با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات پیشین کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاهش فتوسنتز و سنتز کربوهیدرات‌ها از عوامل دخیل در این امر می‌باشد (۳، ۵، ۱۷ و ۳۰). اگرچه میزان تولید اتیلن در این گیاه مورد اندازه‌گیری قرار نگرفت اما طبق گزارشات ذکر شده تولید اتیلن یکی از مکانسیم‌های گیاهان جهت مقابله با کمبود آهن است که خود می‌تواند از عوامل موثر در کاهش طول عمر گل در گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن باشد. از سوی دیگر گیاهان تحت رژیم پلکانی در مقایسه با سایر تیمارها بالاترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی را داشتند (شکل ۱ و ۲) که خود منجر به افزایش فراورده های فتوسنتزی می‌شود که می تواند در افزایش عمر گل، کیفیت و کمیت گل در گیاهان تحت این رژیم موثر باشد.

بر اساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های گیاه همیشه بهار به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای مختلف آهن قرار گرفت (جدول ۱). بالاترین و پایین‌ترین میزان کلروفیل a (۵/۱ و ۴/۷ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر)، کلروفیل a+b (۹/۶ -۶/۶ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) و کاروتنوئید (۱/۹-۱/۱ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) به ترتیب در گیاهان تحت رژیم پلکانی آهن و گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن مشاهده گردید (شکل ۱ و ۲). تیمار ۳۵ میکرومولار آهن از نظر کلروفیلa، کلروفیل a+b و کاروتنوئید حدواسط دو تیمار دیگر بود. بالاترین میزان کلروفیل b در گیاهان تحت تیمار رژیم پلکانی و گیاهان تحت تیمار ۳۵ میکرومولار آهن مشاهده شد. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین میزان کلروفیل b در این دو تیمار وجود نداشت. گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن در پایین‌ترین سطح از نظر میزان کلروفیل b (۱/۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) قرار داشتند (شکل ۱ و ۲).

آهن عنصر کلیدی در مسیر بیوسنتزی کلروفیل و کاروتنوئید می‌باشد. کمبود آهن از طریق کاهش سنتز اس- آمینولولینیک اسید [1] و پروتوکلروفیلاد سبب کاهش سنتز کلروفیل وکاروتنوئید و ظهور علائم کلروز در بادام زمینی گردید (۱۱). با توجه با نتایج حاصل از این تحقیق به‌نظر می‌رسد افزایش تدریجی آهن همزمان با رشد گیاه بهتر می‌تواند منجر به افزایش سنتز کلروفیل گردد.

همچنین گزارش شده است که مراحل رشد و نمو گیاه با تغییر در ساختار سلول، محتویات آب و بیوماس همراه است که این تغییرات نحوه جذب مواد غذایی را در تمام دوره رشد و نمو گیاه تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۲). در تحقیق حاضر استفاده از غلظت ۳۵ میکرومولار از ابتدای کشت گیاه غلظت مطلوبی به نظر نمی‌رسد و لازم است گیاه در ابتدا غلظت‌های پایین‌تری از آهن را دریافت کند. افزایش تدریجی غلظت آهن منجر به بهبود سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌گردد که نقش مهمی را در رشد و نمو گیاه دارد.

1- δ- aminolevulinic acid

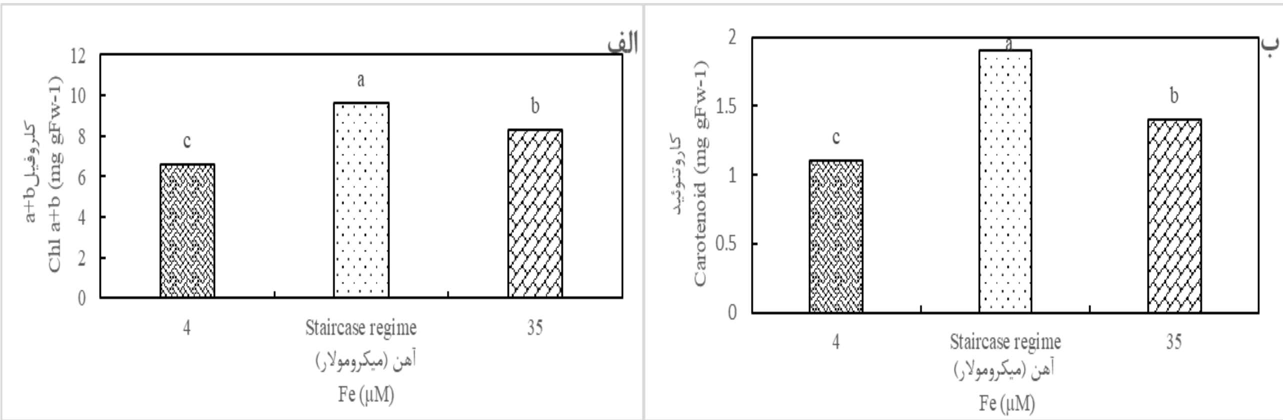


شکل ۱- غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (الف: کلروفیل a؛ ب: کلروفیل b) در گل همیشه بهار

Figure 1- Leaf photosynthetic pigment concentrations (a: Chl a; b: Chl b) in *Calendula officinalis* (LSD, p≤0.05)

*رژیم پلکانی: گیاهان تحت این رژیم در هفته اول کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و هر هفته دو میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۳۰ میکرومولار رسید.

Staircase regime: plants under this regime, at first week, received 4 µM Fe then 2 µM was added to Fe concentration weekly, to reach 30 µM.



شکل ۲- غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (الف: کلروفیل a+b؛ ب: کاروتنوئید) در گل همیشه بهار

Figure 2- Leaf photosynthetic pigment concentrations (a: Chl a+b; b: Carotenoid) in *Calendula officinalis* (LSD, p≤0.05)

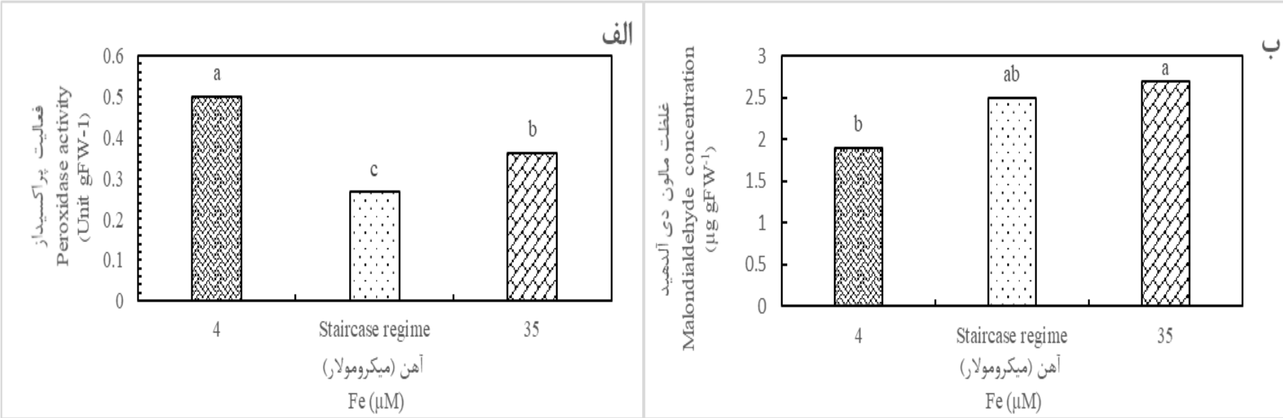
*رژیم پلکانی: گیاهان تحت این رژیم در هفته اول کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و هر هفته دو میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۳۰ میکرومولار رسید.

Staircase regime: plants under this regime, at first week, received 4 µM Fe then 2 µM was added to Fe concentration weekly, to reach 30 µM.

اثر تیمارهای مختلف آهن بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در شکل ۳ نشان داده شده است. بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۲۶۶- ۰/۵ واحد بر گرم وزن‌تر) به ترتیب در گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار و رژیم پلکانی دیده شد. کمبود آهن در گیاه به عنوان یک تنش غیر زنده محسوب می‌شود که منجر به تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد.

گونه‌های فعال اکسیژن مولکول‌های واکنش‌پذیری هستند که می‌توانند پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA را اکسید کنند. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی یکی از مکانیسم‌های گیاه برای مقابله و کاهش خسارت اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن هستند (۱۰). بررسی اثر اسیدآسکوربیک بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه شمعدانی معطر[1] تحت غلظت‌های مختلف آهن (۰، ۲۰ و ۴۰ میکرومولار) نشان داد کاهش میزان آهن باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید. استفاده از اسید آسکوربیک در گیاهان تحت تیمار صفر میکرومولار آهن منجر به کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد، در حالی که در غلظت‌های بالاتر آهن تیمار آسکوربیک اسید منجر به افزایش فعالیت این آنزیم شد (۲۶) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت به طوری‌که استفاده از غلظت ۴ میکرومولار سبب ثبت بالاترین فعالیت آنزیم پراکسیداز شد.

1- *Pelargonium graveolens* L.



شکل ۳- فعالیت آنزیم پراکسیداز (الف) و غلظت مالون دی آلدهید (ب) در عصاره برگ همیشه بهار

Figure 3- Peroxidase activity (a) and Malondialdehyde concentration in leaf extracts of *Calendula officinalis* (LSD, p≤0.05)

*رژیم پلکانی: گیاهان تحت این رژیم در هفته اول کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و هر هفته دو میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه می‌شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۳۰ میکرومولار رسید.

Staircase regime: plants under this regime, at first week, received 4 µM Fe then 2 µM was added to Fe concentration weekly, to reach 30 µM.

نتایج جدول تجزیه واریانس حاکی از معنی‌دار بودن اثر تیمارهای آهن بر میزان مالون دی آلدهید برگ گیاه همیشه بهار می‌باشد (جدول ۱). به طوری‌که بالاترین میزان مالون دی آلدهید مربوط به گیاهان تحت تیمار ۳۵ و رژیم پلکانی آهن (۲/۷ و ۲/۵ میکروگرم در گرم وزن‌تر) بود و پایین‌ترین میزان مالون دی آلدهید مربوط به گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن بود (۱/۹ میکروگرم در گرم وزن‌تر) و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین میزان مالون دی آلدهید در تیمار ۳۵ میکرومولار آهن با رژیم پلکانی آهن نبود (شکل ۳). مالون دی آلدهید در نتیجه تخریب و پراکسیداسیون غشاء سلولی در نتیجه فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد، بنابراین بررسی غلظت مالون دی آلدهید بافت گیاهی به عنوان شاخص میزان تخریب غشاء سلولی و نشت یونی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بررسی رشد گندم تحت شرایط آهن زیاد نشان داد غلظت‌های بالای آهن منجر به افزایش میزان مالون دی آلدهید در این گیاه می‌شود (۱۳). اگرچه غلظت مورد استفاده آهن در این تحقیق غلظت بالاتر از حد مجاز نبود ولی نتایج به خوبی اثر افزایش غلظت آهن را بر افزایش میزان تولید مالون دی آلدهید نشان دادند که با نتایج تحقیق ذکر شده در تطابق بود.

نتایج آنالیز واریانس بررسی تبادلات گازی گیاهان تحت تیمارهای مختلف آهن در جدول ۳ گزارش گردید. نتایج مقایسه میانگین بررسی تبادلات گازی نشان داد در مرحله اول بررسی میزان فتوسنتز، تعرق، مقاومت روزنه‌ای و میزان دی‌اکسید کربن زیر روزنه به ترتیب در محدوده ۱۳/۷–۵/۱ میکرومول بر متر مربع برثانیه، ۳/۲ – ۱/۹ میلی‌مول بر متر مربع برثانیه، ۱۰/۵– ۴/۸ مول بر متر مربع بر ثانیه و ۳۸۳/۹– ۱۶۹/۲ میلی‌گرم در لیتر بود. بالاترین و پایین‌ترین میزان فتوسنتز، تعرق به ترتیب مربوط به گیاهان تحت رژیم پلکانی و ۴ میکرومولار بود و بالعکس بالاترین و پایین‌ترین مقاومت روزنه‌ای و میزان دی اکسید کربن داخلی به ترتیب در گیاهان رشد یافته تحت غلظت ۴ میکرومولار آهن و رژیم پلکانی دیده شد. قابل ذکر است که در خصوص کلیه پارامترهای مربوط به تبادلات گازی گیاهان تحت تیمار ۳۵ میکرومولار حد واسط دو تیمار دیگر بودند (جدول ۴). در مرحله دوم نیز بررسی میزان فتوسنتز، تعرق، مقاومت روزنه‌ای و میزان دی‌اکسید کربن داخلی به ترتیب در محدوده ۱۲/۲–۴/۵ میکرومول بر متر مربع برثانیه، ۱/۹– ۰/۸ میلی‌مول بر متر مربع برثانیه، ۲۹/۷– ۱۳ مول بر متر مربع بر ثانیه و ۱۶۹/۲–۱۲۰/۵ میلی‌گرم در لیتر قرار داشتند. گیاهان رشد یافته تحت رژیم پلکانی بالاترین میزان فتوسنتز و تعرق و پایین ترین میزان مقاومت روزنه‌ای و میزان دی‌اکسید کربن را داشتند. گیاهان رشد یافته تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن پایین‌ترین میزان فتوسنتز و تعرق و بالاترین میزان مقاومت روزنه ای و میزان دی اکسید کربن را داشتند. به جز در مورد تعرق که بین گیاهان رشد یافته تحت رژیم پلکانی و غلظت ۳۵ میکرومولار آهن از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، در بقیه موارد این تیمار حدواسط دو تیمار دیگر بود (جدول ۴). آهن بعنوان فاکتور کلیدی پروسه‌های متابولیکی مانند سنتز رنگیزه، ساختار کلروپلاست، فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و زنجیره انتقال الکترون در فتوسنتز ایفا می‌کند (۲۹).

جدول ۳- تجزیه واریانس اندازه‌گیری تبادلات گازی گیاه همیشه بهار تحت تاثیر رژیم‌های مختلف آهن

Table 3- Gas exchange measurements of *Calendula officinalis* under different Iron regimes

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	فتوسنتز Photosynthesis	تعرق Transpiration	مقاومت روزنه‌ای Stomatal resistance	دی‌اکسید کربن داخلی Internal CO_2
غلظت آهن Fe concentration	2	58.62*	1.22*	24.8*	35423.73*
خطا Error	6	1.18	0.19	0.34	662.22
ضریب تغییرات C.V (%)		10.9	17.7	8	9.6

*، ns: معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی دار.

*, ns: significant at 5 % of probability level, and non–significant, respectively.

جدول ٤- مقایسه میانگین اندازه گیری تبادلات گازی گیاه همیشه بهار در دو مرحله (مرحله اول: گیاهان تحت رژیم پلکانی در حال دریافت غلظت ١٦ میکرومولار آهن بودند و مرحله دوم: گیاهان تحت رژیم پلکانی در حال در یافت غلظت ٢٦ میکرومولار آهن بودند) تحت تاثیر رژیم‌های مختلف آهن

Table 4- Means comparison of gas exchange measurements of *Calendula officinalis* in two stages (Stage 1: plants under Staircase regime received 16 µM Fe and Stage 2: plants under Staircase regime received 26 µM Fe) under different Iron regimes

	Stage 1 مرحله اول				Stage2 مرحله دوم			
رژیم‌های مختلف آهن Different iron regimes (µM)	فتوسنتز Photosynthesis rate (µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)	تعرق Transpiration rate (mmol H_2O $m^{-2}s^{1}$)	مقاومت روزنه‌ای Stomatal resistance (mol H_2O $m^2 s^1$)	دی‌اکسید کربن داخلی Internal CO_2 (ppm)	فتوسنتز Photosynthesis rate (µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)	تعرق Transpiration rate (mmol H_2O $m^{-2}s^{1}$)	مقاومت روزنه‌ای Stomatal resistance (mol H_2O $m^2 s^1$)	دی‌اکسید کربن داخلی Internal CO_2 (ppm)
4	5.1^{c}	1.9^{b}	10.5^{a}	383.9^{a}	4.5^{c}	0.8^{b}	29.7^{a}	169.2^{a}
رژیم پلکانی* Staircase regime	13.7^{a}	3.2^{a}	4.8^{c}	169.2^{c}	12.2^{a}	1.9^{a}	13^{c}	120.5^{c}
35	11^{b}	2.4^{ab}	6.7^{b}	247.4^{b}	9^{b}	1.5^{a}	18.9^{b}	141.4^{b}

میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ردیف با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری دارند.

In each column, means follow by the different letter are significantly different based on LSD.

*رژیم پلکانی: گیاهان تحت این رژیم در هفته اول کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و هر هفته دو میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه می‌شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۳۰ میکرومولار رسید.

ایزدی و همکاران (۹) در تحقیق که روی بررسی اثر تقسیط آهن در گیاه همیشه بهار انجام دادند، دریافتند استفاده از آهن با غلظت ۳۵ میکرومولار در کلیه مراحل رشد (۳۵-۳۵-۳۵) و یا دو مرحله از مراحل رشد گیاه (۳۵-۳۵-۴، ۴-۳۵-۳۵، ۳۵-۴-۳۵) سبب شد تا میزان فتوسنتز و تعرق در این گیاهان بالاتر از گیاهانی باشد که در دو مرحله (۴-۴-۳۵، ۴-۳۵-۴، ۳۵-۴-۴) یا کلیه مراحل رشد خود آهن با غلظت ۴ میکرومولار (۴-۴-۴) دریافت کردند. بررسی اثر آهن و کادمیوم بر فتوسنتز نشان داد فعالیت فتوسنتزی گیاه توسط کادمیوم مختل می‌گردد، این در حالی است که استفاده از آهن سبب تسکین کاهش فعالیت فتوسنتزی ناشی از کادمیوم شد (۱۲). بررسی نقش آهن در میزان فتوسنتز و آسیمیلاسیون نیتروژن در جلبک سبز[1] نشان داد

کارایی فتوسنتز به شدت به تغذیه آهن وابسته است. همچنین کمبود آهن از طریق کاهش انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون

1- *Scenedesmus quadricauda*

همچنین کاهش جریان انرژی حاصل از فتوسنتز می‌گردد (۲۹). در تحقیق حاضر بالاترین میزان فتوسنتز مربوط به گیاهان تحت رژیم پلکانی آهن بود، از آنجایی‌که آهن در این تیمار موجب افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید به تبع میزان فتوسنتز نیز در این گیاهان افزایش پیدا کرد. نتایج رگرسیون خطی نشان داد به ترتیب کلروفیل a، کلروفیل a+b و کاروتنوئید با قدرت تبیین کنندگی (R2) ۰/۷۳، ۰/۸ و ۰/۷۶ قادر به تبیین واریانس فتوسنتز است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر مشخص شد که افزایش تدریجی غلظت آهن در طی روند رشد گیاه می‌تواند شاخص‌های مورفو-فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه را به طور مطلوبی تحت تاثیر قرار دهد که به تبع بهبود این شاخص‌ها منجر به افزایش کمیت و کیفیت گل در گیاه همیشه بهار گردید. افزایش کیفیت و کمیت گل یکی از فاکتورهای مهم مورد توجه در زمینه تولید گیاهان زینتی می‌باشد. از آنجایی‌که کودها و کلات‌های آهن ترکیباتی گران قیمت هستند، تهیه آن‌ها توسط تولیدکنندگان، منجر به افزایش هزینه تولید محصول می‌گردد، افزایش تدریجی آهن در طی رشد به منزله کاهش مصرف این کود و کاهش هزینه‌های تولید گیاهان زینتی می‌باشد. از سوی دیگر یکی از مهمترین نگرانی‌های بشر آلودگی خاک‌های کشاورزی با انواع کودهای شیمیایی است که استفاده از رژیم پلکانی آهن در نتیجه کاهش مصرف کود به کاهش آلودگی محیط زیست کمک شایانی خواهد کرد.

منابع

1- Abadia J., Vazquez S., Rellan-Alvarez R., El-Jendoubi H., Abadía A., Alvarez-FernAndez A., and Lopez-Millan A.F. 2011. Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis. Plant Physiology and Biochemistry 49: 471-482.
2- Adamski J.M., Danieloski R., Deuner S., Braga E.J., de Castro L.A., and Peters J.A. 2012. Responses to excess iron in sweet potato: impacts on growth, enzyme activities, mineral concentrations, and anatomy. Acta Physiologiae Plantarum 34: 1827-1836.
3- Ahmad I., Khan M.A., Qasim M., Ahmad R., and Randhawa M.A. 2010. Growth, yield and quality of Rosa hybrida L. as influenced by various micronutrients. Pakistan Journal of Agriculture 47: 5-12.
4- Àlvarez-Fernàndez A., Abadía J., and Abadía A. 2006. Iron deficiency, fruit yield and fruit quality. In: Barton L.L., Abadia J (ends) Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms, Springer, Dordrecht 85-101.
5- Amuamuha L., Pirzad A., and Hadi H. 2012. Effect of varying concentrations and time of Nano-iron foliar application on the yield and essential oil of Pot marigold. International Research Journal of Applied and Basic Sciences 3: 2085-2090.
6- Buege J.A., and Aust S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzyme 52: 302-310.
7- Chakraborty B., Singh P.N., Shukla A., and Mishra D.S. 2012. Physiological and biochemical adjustment of iron chlorosis affected low-chill peach cultivars supplied with different iron sources. Physiology and Molecular Biology of Plants 18: 141-148.
8- El-Jendoubi H., Vazquez S., Calatayud A., Vavpetic P., Vogel-Mikus K., Pelicon P., Abadia J., Abadia A., and Morales F. 2014. The effects of foliar fertilization with iron sulfate in chlorotic leaves are limited to the treated area. A study with peach trees (*Prunus persica* L .Batsch) grown in the field and sugar beet (*Beta vulgaris* L.) grown in hydroponics. Frontiers in Plant Science 5: 1-16.
9- Izadi Z., Rezaei Nejad A., and Abadia J. 2020. Physio-morphological and biochemical responses of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) to split iron nutrition. Acta Physiologiae Plantarum 42: 1-14.
10- Kabir A.H., Rahman M.M., Haider S.A., and Paul N.K. 2015. Mechanisms associated with differential tolerance to Fe deficiency in okra (*Abelmoschus esculentus Moench*). Environmental and Experimental Botany 112: 16-26.
11- Kong J., Dong Y., Xu L., Liu S., and Bai X. 2014. Role of exogenous nitric oxide in alleviating iron deficiency induced peanut chlorosis on calcareous soil. Journal of Plant Interactions 9: 450-459.
12- Li D., Wang C., Liu W., Peng Z., Huang S., Huang J., and Chen S. 2016. Estimation of litchi (*Litchi chinensis Sonn*.) leaf nitrogen content at different growth stages using canopy reflectance spectra. European Journal of Agronomy 80:182-194.
13- Li X., Ma H., Jia P., Wang J., Jia L., Zhang T., Yang Y., Chen H., and Wei X. 2012. Responses of seedling growth and antioxidant activity to excess iron and copper in *Triticum aestivum* L. Ecotoxicology and Environment Safety 86: 47-53.
14- Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.
15- Lu Y., Yang X., Li R., Li S., and Tong Y. 2015. Effects of different potassium fertilizer application periods on the

yield and quality of Fuji apple. Chinese Journal of Applied Ecology 26: 1179-1185.
16- MacAdam J.W., Nelson C.J., and Sharp R.E. 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. Plant Physiology 99: 872-878.
17- Memon S.A., Abdul R., Muhammad A., and Mahmooda B. 2013. Effect of zinc sulphate and iron sulphate on the growth and flower production of gladiolus (*Gladiolus hortulanus*). Journal of Agricultural Technology 9: 1621-163.
18- Najafi-Ghiri M., Ghasemi-Fasaei R., and Farrokhnejad E. 2013. Factors affecting micronutrient availability in calcareous soils of Southern Iran. Arid Land Research and Management 27: 203-215.
19- Pang W., Crow W., Luc J., McSorley R., Giblin-Davis R., Kenworthy K., and Kruse J. 2011. Comparison of water displacement and WinRHIZO software for plant root parameter assessment. Plant Disease 95: 1308-1310.
20- Pavlovic J., Samardzic J., Maksimović V., Timotijevic G., Stevic N., Laursen K.H., Hansen T.H., Husted S., Schjoerring J.K., and Liang Y. 2013. Silicon alleviates iron deficiency in cucumber by promoting mobilization of iron in the root apoplast. New Phytologist 198: 1096-1107.
21- Pirzad A., and Shokrani F. 2012. Effects of iron application on growth characters and flower yield of *Calendula officinalis* L. under water stress. World Applied Sciences Journal 18: 1203-1208.
22- Romera F.J., García M.J., Alcántara E., and Pérez-Vicente R. 2011. Latest findings about the interplay of auxin, ethylene and nitric oxide in the regulation of Fe deficiency responses by Strategy I plants. Plant Signaling & Behavior 6: 167-170.
23- Roosta H.R., Jalali M., and Ali Vakili Shahrbabaki S.M. 2015. Effect of nano Fe-chelate, Fe-Eddha and FeSO4 on vegetative growth, physiological parameters and some nutrient elements concentrations of four varieties of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in NFT system. Journal of Plant Nutrition 38: 2176-2184.
24- Santos C.S., Roriz M., Carvalho S.M., and Vasconcelos M.W. 2015. Iron partitioning at an early growth stage impacts iron deficiency response in soybean plants (*Glycine max* L.). Frontiers in Plant Science 6:1-12.
25- Satoh S. 2011. Ethylene production and petal wilting during senescence of cut carnation (*Dianthus caryophyllus*) flowers and prolonging their vase life by genetic transformation. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 192: 127-135.
26- Sepahvand K., Rezaei Nejad A., and Hosseini S. 2017. Effect of ascorbic acid on some morphological and physiological characteristics of *Pelargonium graveolens* under iron deficiency. Iranian Journal of Horticultural Science 48: 545-554. (In Persian with English abstract)
27- Shaiful I.M., Hasanuzzaman M., Rokonuzzaman M., and Nahar K. 2009. Effect of split application of nitrogen fertilizer on morphophysiological parameters of rice genotypes. International Journal of Plant Production 3: 51-62.
28- Ulger S., Sonmez S., Karkacier M., Ertoy N., Akdesir O., and Aksu M. 2004. Determination of endogenous hormones, sugars and mineral nutrition levels during the induction, initiation and differentiation stage and their effects on flower formation in olive. Plant Growth Regulation 42: 89-95.
29- Vigani G., Zocchi G., Bashir K., Philippar K., and Briat J-F. 2013. Signals from chloroplasts and mitochondria for iron homeostasis regulation. Trends in Plant Science 18: 305-311.
30- Vijay I., Nageswara Rao M.B., Sudhavani V., Viji C.P. 2018. Effect of iron on vegetative growth, flowering, corm and cormel production in gladiolus (*Gladiolus grandiflorus* L.) cv. white prosperity", International Journal of Pure & Applied Bioscience 6: 564-569.
31- Yang G., Li J., Liu W., Yu Z., Shi Y., Lv B., Wang B., and Han D. 2015. Molecular cloning and characterization of MxNAS2, a gene encoding nicotianamine synthase in *Malus xiaojinensis*, with functions in tolerance to iron stress and misshapen flower in transgenic tobacco. Scientia Horticulturae 183: 77-86.

Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.2, Summer 2020, P. 349-360
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۳۶۰-۳۴۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Effect of Different Iron Concentrations and StaircaseIron Regime on Some Morphological, Biochemical and Flowering Characteristics of *Calendula officinalis*

Z. Izadi[1]- A. Rezaei Nejad[2]*
Received: 28-08-2019
Accepted: 23-06-2020

Introduction: While Iron (Fe) is the fourth most abundant element in the earth's crust, it is not easily available for plant roots. Therefore, Fe deficiency is one of the major limiting factors for plant growth and development in calcareous soils worldwide. Fe deficiency are also predominant in many areas of Iran. It is an essential micronutrient for plants that play vital roles in many metabolic processes. Fe is a component of a number of molecules such as Fe-sulfur (Fe-S) and heme Fe proteins, which are required for photosynthesis, respiration and N_2 fixation. However, the possibility of using split-type fertilization at different growth stages during development has been explored in other plant species for macronutrients N, P, and K. The aim of this work was to test the hypothesis that it may be feasible to decrease Fe-chelate inputs, by studying the effect of gradually increasing of Fe concentration during *Calendula officinalis* growing period.

Materials and Methods: In order to study the effect of gradual increase of Fe concentration during *Calendula officinalis* growing period, an experiment was carried out as a completely randomized design with four replications (pots) at research greenhouse of Faculty of Agriculture, Lorestan University, in 2017. Treatments contained three levels of Fe (Fe-chelate Fe (III)- Ethylenediamine-N, N' –bis ((2-hydroxyphenyl) acetic acid): 4, 20 µM and staircase method. Staircasetreatment included increase of Fe concentration, so that at first week plants received 4 µM Fe then 2 µM was added to Fe concentration weekly, to reach 26 µM. Some morphological, physiological parameters, flower characteristics and gas exchange had measured. Data of all measured parameters were subjected to analysis of variance using the SAS software (9.1.3, SAS Institute Inc.), and means were compared using a Duncan test at $P \leq 0.05$.

Results and Discussion: Results showed that the application of 4 µM Fe led to higher root volume, and peroxidase activity. Romera et al. (2011) reported that under Fe deficiency, strategy of plants developed morphological changes in their roots and up-regulated the expression of Fe acquisition genes. Under Fe deficiency some phytohormones such as ethylene and auxin will increased. Both hormones play pivotal role in the development of sub-apical root hair and transfer cells. Sepahvand et al (2017) investigated the effect of ascorbic acid on *pelagonium graveolens* characteristics under Fe deficiency and found that peroxidase activity increased under Fe deficiency. Application of ascorbic acid led to decrease peroxidase activity. Maximum biomass was obtained in plants under 35 µM Fe and staircase treatment. Maximum chl a and b, chl a+b, carotenoids, root dry weight, flower diameter, flower longevity, number of flowers, and first flower fresh weight was observed in the plants under staircase treatment. Fe plays important role in biosynthetic pathway of chlorophyll and carotenoids. In addition, plants under staircase treatment showed the maximum photosynthesis and transpiration rate. Kong et al. (2014), reported that Fe deficiency led to decrease of δ- aminolevulinic acid and protochlorophyllide as precursors of chlorophyll. Ethylene and ABA are involved in Fe-deficiency signalling in plants, and these compounds may hasten senescence (Satoh, 2011). The short flower lifetime found in the present experiment in the low Fe treatment may be due to the boost in ethylene and ABA synthesis in response to Fe deficiency. On the other hand, plants under staircase regime had higher photosynthetic pigments that led to maximum photosynthesis. Increasing flower quality, quantity and longevity related to higher photosynthesis activity. Iron is a component of a number of proteins and enzymes, such as iron-sulfur (Fe-S) proteins and non-heme iron proteins, which are required during photosynthesis (Chakraborty et al., 2012). Li et al. (2016) investigated the influence and interaction of Cadmium (Cd) and Fe on photosynthesis and reported that Cd inhibits photosynthesis activity, but Fe alleviates the Cd-induced changes in photosynthesis activity. In addition, higher MDA contents were observed in plants under 35 µM Fe and staircase treatment. Li et al. (2012) reported that the high levels of Fe led to maximum MDA contents.

Conclusion: Growing the plants with staircase treatment increased flower yield, quality and longevity. These

1 and 2- Ph.D. Student and Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, respectively.
(*- Corresponding Author Email: rezaeinejad.h@lu.ac.ir)

parameters are the most important factors in growing of ornamentals plants. Whereas Fe fertilizers are so expensive, restricting the use of expensive products such as Fe (III)-chelates at some growth stages can contribute to decrease the cultivation costs and minimize environmental pollution associated to an excess of fertilizer inputs. Therefore, gradually increasing Fe concentrations during production of *Calendula officinalis* under soilless culture would be recommended.

Keywords: Ornamental plants, Photosynthesis parameters, Photosynthesis pigments